维普资讯 http://www.cqvip.com

精子能动性的比浊分析法

物理教研室 叶继伦 吕昌祥 龚尔璋 王学文 裴 明

提 要 本文描述了精子能动性的比浊分析法原理及其实验装置，并利用此法定量地分析了10只大鼠的精子能动性。提出了此法在临床应用的可能性

关键词 比浊法；精子能动性；吸收率

精子能动性是反映精子受精能力的最重要指标之一[1]。在男性计划生育研究中，定量化地分析精子能动性将有助于正确评价男性不育和男性节育效果。近年来国内外学者曾报导过多种精子能动性的定量分析法，如单次或多次曝光显微摄影术[2,3,4]、比浊分析法[5,6]、显微录像分析法[7,8]、激光散射技术等[9,10]、这些方法的建立为分析精子能动性提供了客观的定量分析手段。我们实验室在建立了多次曝光显微摄影术之后[4]、同时进行应用比浊分析法和激光散射技术检测精子能动性的研究，我们认为精子能动性的比浊分析法很有应用价值，它具有装置简单、操作方便、费时少、可重复等优点。迄今国内尚未见有这方面的报导，因此本文拟就此法的原理、装置和实验过程作一简介，并利用此法分析了10只大鼠的精子能动性。

原理简介

精子是一种结构复杂并具有能动性的细胞，而其中具有活泼能动性和前进运动方向一致的精子最能反映精子的受精能力。比浊分析法就是测量这部分精子的能动性。它的理论依据是：当精子运动并游入比浊计光路中的介质时将会产生与时间相关的光吸收率增加，这种增加量是由于在一定范围内与精子运动的平均速率和精子浓度成正比例关系的精子浊度效应所引起的；具有以上两者相结合特性的精子将首先由样品池底部向上游入光学通路并产生浊度变化。记录这些浊度变化及其相应的时间，经过数学处理就可获得活泼精子运动的平均速率。以吸收率作为纵轴，时间作为横轴建立图1所示的坐标。

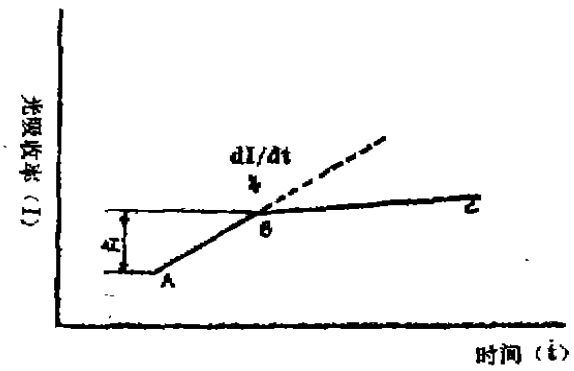


图1 吸收率对时间变化的原理曲线

将实验数据在此坐标图上描出，即可得图1所示的曲线 ABC。此曲线的变化有三大特点：（1）A 点以前，浊度基本上不随时间变化而变化，与此相对应的时间—驰豫时间。（2）A 至 B 点段，此段的浊度变化随时间作线性增长，且此段的浊度变化率较大。（3）B 至 C 点段，此段的浊度变化也随时间作线性增长，但其浊度变化率较小。因此

维普资讯 http://www.cqvip.com

根据此曲线的上述特点，可以作如下的数学处理：将 A 至 B 点段的各数据点进行最小二乘法的线性拟合，并计算出 AB 段的浊度变化率 dI/dt 和 A 与 B 二端点间的光吸收率差值 ΔI，由公式：平均速率 $=K\cdot\frac{dI/dt}{\Delta I}$ [5]，式中 $K=1.667\times10^{3}\mu m$。即可求出具有活泼能动性和前进运动方向一致性的那部分精子的平均运动速率。注意精子的浊度效应虽然与精子运动的平均速度和精子浓度有关，但精子浓度仅影响浊度变化的绝对值，而不影响浊度变化的相对值，因此上述公式也只给出了活泼精子的平均运动速率与浊度变化间的关系，而没有考虑精子浓度对浊度变化的影响。

实验装置和方法

本实验所用设备主要有：721型分光光度计、电刺激采精器[11]、光学显微镜、恒温槽等。

利用电刺激采精器采集大鼠的新鲜精液，并注入预热过的且盛有1.5ml精子营养液的试管中[13]，再将此试管置入恒温槽中待用，槽内温度保持在36℃左右，让精液在恒温槽中液化10分钟后，在光学显微镜下观测精子的运动状态和活精子百分率。

利用721型分光光度计来记录由精子运动的浊度效应所引起的光吸收率增址，用停表记录相应的时间，测量波长选择在545nm[5]，室温在28℃左右。样品池采用0.5cm的标准比色皿，但需要改制。比色皿的透光面如图2所示，由其底部向上遮去1.0cm，中部留下1.0cm的透明窗——即上述的光路，上部也全都遮去。

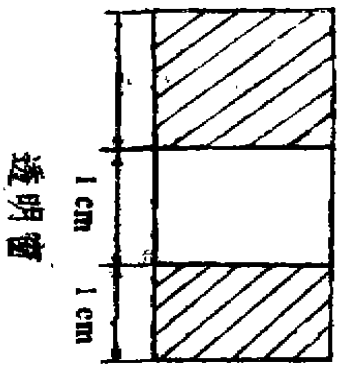


图2 比色皿的改制图

实验时，首先在样品池中注入1.0ml的精子营养液，再用装有12号针头的1.0ml注射器从上述预备的试管中吸取0.6ml的精液，并将此针头伸到样品池底部，缓慢地将精液推入样品池底层，尽量避免因流体涡旋而产生光吸收增加的假象，使精液能在样品池底部均匀分层，然后将此样品池置入分光光度计的测量池中，并以精子营养液作为空白溶液校准100%的透光率，同时记录吸收率的变化及其相应的时间，一般需要记录8～10min。注意在实验中，死精子及与精子大小是同一数量级的颗粒的简单扩散运动均可忽略[5]。

实验结果

在实验中我们对10只大白鼠的精液作了精子能动性的比浊法分析。所选用的大鼠均为具有4～5个月月龄的正常成熟雄鼠，体重为0.407±0.038kg，室温为28℃左右，恒温槽温度为36℃左右。将实验中测出的光吸收率对时间的函数关系以图示方式表示出来：如图3所示。再将实验曲线按原理部分所介绍的方法进行处理，所得结果如表1所列。

由表1中数据可知：本实验所测得的大鼠精子平均运动速度介于96～186(μm/Sec)之间，这与我们利用多次曝光显微摄影术所测得的结果相比较要偏大些[4]，其原因是：本法所测量的是具有最活泼能动性和最大前进运动方向一致性的那部分精子的平均运动速率。但本实验结果基本上与Sokoloski, J. E. 等的分析结果相一致[5]。

讨 论

精子能动性的定量分析是研究、评价男性不育和男性避孕效果的重要手段。目前国内对精子能动性的分析大都采用常规的光学显微镜观测法，缺乏统一的客观定量指标。

维普资讯 http://www.cqvip.com

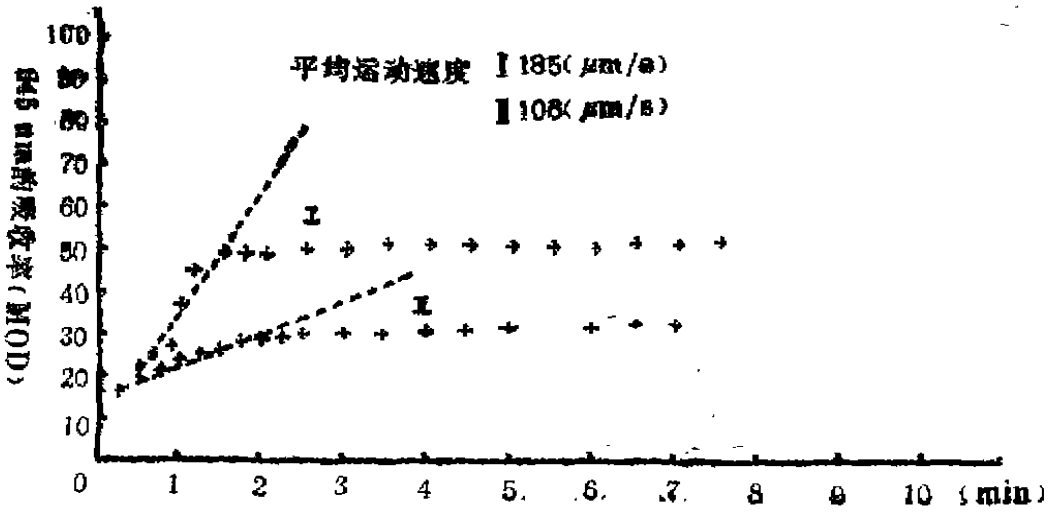


图 3　光吸收率随时间变化的实验曲线

注：Ⅰ表示第2*号动物的实验曲线，Ⅱ表示第3*号动物的实验曲线。

表 1　精子平均运动速度和活精子百分率

动物编号	平均速度(μm/s)	活精子百分率(0%)
1	155	81
2*	186	82
2	160	80
2*	105	85
3	96	86
4	136	74
5	170	91
6	164	70
7	111	83
8	130	80
9	146	65
10	178	76

注：2与2*的精液样本取自同一个动物；3与3*的精液样本取自同一个动物。

本文所建立的精子能动性的比浊分析法能较快地测出活泼精子运动的平均速率，为正确评价精子的受精能力提供了一个重要的客观定量指标。

在实验过程中，使精液在样品池底部均匀分层是实验操作成败的关键。一定要缓慢地将精液推入样品池底层，否则会因产生流体涡旋而导致光吸收率增加的假象，影响分析结果。因此有人为此制成了特种样品池[6]。我们的实验表明：利用经改制的标准样品池同样能获得较满意的结果，但应适当控制精液和精子营养液的用量。

比浊分析法的实验装置简单、操作方便，很有应用价值。国外曾有人利用此法定量地分析了药物对精子能动性的影响[12]，国内尚未见到有关这方面的报道。虽然我们仅分析了大鼠的精子能动性，但此法也可用于分析人精子的能动性及其它动物精子和微生物体的能动性。另外如能对精子运动的浊度效应实施计算机定时采样、联机分析，就将大大提高比浊分析法的精度和速度，这些都有待于作进一步研究。

参 考 文 献

[1] Amerlar R D, et al, Fertil & Steril 1980; 34 (3):197

[2] Kamidono S, et al, Fertil & Steril 1984; 41 (4):620

[3] 江鱼，等，生殖与避孕，1982; 2 (3):63

[4] 王学文，等，重庆医科大学学报，1988; 13 (3):326

[5] Sokoloski J E, et al, Fertil & Steril 1977; 28 (12):1337

[6] Levin R M, et al, Androgia 1984; 16 (5):434

[7] Katz D F, et al, Fertil & Steril; 1981; 35(2):188

维普资讯 http://www.cqvip.com

枸橼酸维静宁及其制剂的微量比色测定法

高一医院临床药理研究室 何海霞 朱治本

镇咳药枸橼酸维静宁，中国药典规定用高氯酸非水溶液滴定法测定含量。此法为常量分析，片剂[1]及糖浆剂[2]的分析样品前处理较繁，费工，试剂消耗量大，特别是不能对每片或每滴丸的含量进行均匀度测定。本文在Weclawska[3]法的基础上，对枸橼酸维静宁及其制剂的微量比色测定法进行了探讨，并加以改进。

本法的基本原理是枸橼酸维静宁与吖嗪染料T(橙黄Ⅰ)在pH<3(最适pH值为2.6)时，10min内产生一复合物，此复合物溶于氯仿，用氯仿抽提后，于λ_{max}490nm处测定含量。

仪器和试剂

1. **仪器** 721型分光光度计

2. **试剂** 1. 1.5mol/L乙酸溶液；2. 0.1%橙黄Ⅰ溶液；3. 氯仿；4. 枸橼酸维静宁储备液—精密称取经五氧化二磷干燥至恒重的枸橼酸维静宁一定量，用蒸馏水配成1mmol/L的标准储备液。冰箱保存。

实验方法与结果

1. **实验条件的选择**

(1) 最大吸收波长的确定：将枸橼酸维静宁

[8] 潘善培，等，暨南理医学报，1986 (1)：111
[9] Naylor G P, et al. Med & Biol Eng & Comput 1982; 20: 207
[10] Earnshaw J C, et al. Med & Biol Eng & Comput 1985; 23:263
[11] 龚尔璋，等．重庆医科大学学报 1987; 12 (4):282
[12] Levin R D, et al. Fertil & Steril 1980; 33 (6):631
[13] 施锡恩，等．泌尿外科学，北京人民卫生出版社 1978; 528

THE TURBIDIMETRIC ANALYING METHOD OF SPERM MOTILITY

Ye Jilun, et al

(Department of physics)

This article describes the turbidimetric method of measuring sperm motility and its experimental apparatus. By this method, the sperm motilities of 10 rats have been measured. Its possible clinical applications are mentioned

KEY WORDS Turbidimetry; Sperm motility; Absorbance